

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. A. Mayr

und aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt in Aulendorf

Leiter: Oberreg.Vet.Direktor Professor Dr. K. Dedié

---

**Untersuchung über das Vorkommen von Mycoplasmen  
bei respiratorischen Kälbererkrankungen unter  
besonderer Berücksichtigung der enzootischen  
Pneumonie der Mastkälber**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-  
Universität München

von  
Klaus W. Gossger  
aus

Munderkingen

München 1974



Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektions-  
krankheiten der Tiere der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. A. Mayr

und aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungs-  
amt in Aulendorf

Leiter: Oberreg.Vet.Direktor Professor Dr. K. Dedié

Untersuchung über das Vorkommen von Mycoplasmen  
bei respiratorischen Kälbererkrankungen unter  
besonderer Berücksichtigung der enzootischen  
Pneumonie der Mastkälber

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-  
Universität München

von  
Klaus W. Gossger  
aus  
Munderkingen

München 1974



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen  
Fakultät der Universität München

|              |                            |
|--------------|----------------------------|
| Dekan:       | Prof. Dr. E. Dahme         |
| Referent:    | Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr |
| Korreferent: | Prof. Dr. I. Gylstorff     |

Tag der Promotion: 26. Juli 1974



# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                             | Seite |
|-------------------------------------------------------------|-------|
| 1. EINLEITUNG                                               | 1     |
| 2. LITERATUR                                                | 3     |
| 2.1. Mischinfektionen beim Rind                             | 3     |
| 2.1.1. Begriffsbestimmung                                   | 3     |
| 2.1.2. Virale Mischinfektionen                              | 8     |
| 2.1.3. Bakterielle Mischinfektionen                         | 11    |
| 2.1.4. Mischinfektionen durch unterschiedliche Erregerarten | 12    |
| 2.2. Vorkommen von Mycoplasmen beim Rind                    | 13    |
| 2.2.1. Allgemeines                                          | 13    |
| 2.2.2. Erkrankungen mit Mycoplasmenbeteiligung beim Rind    | 16    |
| 2.2.2.1. Lungenseuche                                       | 16    |
| 2.2.2.2. Mastitis                                           | 17    |
| 2.2.2.3. Arthritis                                          | 19    |
| 2.2.2.4. Genitalerkrankungen einschließlich Aborte          | 20    |
| 2.2.2.5. Respiratorische Erkrankungen                       | 21    |
| 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN                                    | 24    |
| 3.1. Material und Methoden                                  | 24    |
| 3.1.1. Tiermaterial                                         | 24    |



|                                            | Seite |
|--------------------------------------------|-------|
| 3.1.2. Gewinnung der Untersuchungsproben   | 26    |
| 3.1.3. Anzüchtung                          | 27    |
| 3.1.3.1. Nährmedien                        | 27    |
| 3.1.3.2. Technik der Anzüchtung            | 30    |
| 3.1.4. Differenzierung                     | 31    |
| 3.1.4.1. Kulturelle Differenzierung        | 31    |
| 3.1.4.2. Biochemische Differenzierung      | 31    |
| 3.1.4.3. Serologische Differenzierung      | 32    |
| 3.1.4.3.1. Herstellung der Antigene        | 32    |
| 3.1.4.3.2. Herstellung der Antiseren       | 32    |
| 3.1.4.3.3. Präzipitation                   | 33    |
| 3.1.4.4. Differenzierung mittels Färbung   | 34    |
| 3.1.5. Referenzstämme                      | 35    |
| 3.2. Ergebnisse                            | 36    |
| 3.3. Diskussion                            | 45    |
| 4. Z U S A M M E N F A S S U N G           | 48    |
| 5. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S | 50    |
| 6. L E B E N S L A U F                     | 60    |



## 1. E I N L E I T U N G

Die Kälberaufzucht und -mast war noch nie völlig problemlos. Trotz großer Sorgfalt und Mühe mußte immer mit gewissen Verlusten gerechnet werden. Große Schwierigkeiten bereiteten dabei auch die infektiösen Erkrankungen des Respirations- und Digestionstraktes. Die anfänglichen Hoffnungen, daß es möglich wäre, durch moderne Haltungsbedingungen die Kälberkrankheiten tilgen zu können, erwiesen sich leider als trügerisch. Zwar sind viele der bekannten, vor allem der bakteriell bedingten Infektionskrankheiten verschwunden bzw. sind durch prophylaktische und therapeutische Maßnahmen kontrollierbar geworden, doch belasten nun an ihrer Stelle Infektionen die Aufzucht, die früher entweder überhaupt nicht bekannt waren oder keine Rolle spielten. Diese Entwicklung ist vor allem damit zu erklären, daß durch das gemeinsame Aufstallen der Kälber aus den unterschiedlichsten Beständen in großen Massentierställen eine Vielzahl von Erregern künstlich auf engsten Raum zusammengeführt wird. Damit bilden sich ideale Voraussetzungen für die Entstehung von Mischinfektionen, d.h. die Kombination von Keimen, die für sich allein völlig harmlos sind und erst im Zusammenwirken mit anderen Infektionserregern einen Makroorganismus krank zu machen vermögen.

Die respiratorischen Erkrankungen beim Kalb, häufig unter dem Begriff "enzootische Pneumonie der Kälber" zusammengefaßt, sind hierfür ein typisches Beispiel. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß über die Ätiologie dieser Erkrankungen in der Literatur sehr widersprüchliche oder unklare Angaben zu finden sind. Da aber eine wirksame Bekämpfung

dieser Infektionen ohne die genaue Kenntnis der beteiligten Erreger und deren Eigenschaften unmöglich ist, muß versucht werden, durch breit angelegte epizootologische Untersuchungen möglichst viele der in Frage kommenden Erreger zu erfassen. Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, im Rahmen dieser Forschungen das Vorkommen und die Bedeutung von Mycoplasmen bei der enzootischen Pneumonie der Kälber zu untersuchen.

## 2. L I T E R A T U R

### 2.1. Mischinfektionen beim Rind

#### 2.1.1. Begriffsbestimmung

Unter dem Begriff "Mischinfektionen" faßt man alle die Infektionen zusammen, bei denen am Infektionsgeschehen mehr als eine Erregerart beteiligt ist. Entsprechend der zeitlichen Aufeinanderfolge der Infektionen unterscheidet man dabei Doppelinfektionen und Sekundärinfektionen.

Eine Mischinfektion, bei der zwei oder mehrere Erregerarten gleichzeitig wirksam werden, trägt die Bezeichnung Doppelinfektion.

Als Sekundärinfektion bezeichnet man eine Mischinfektion, bei der auf eine bereits bestehende Infektion die Infektion mit einer anderen Erregerart folgt.

Hiervon sind die Begriffe Superinfektion und Reinfektion abzutrennen, da es sich hier um ein und denselben Erreger handelt.

Wird ein infizierter Organismus später mit dem gleichen Erreger wieder infiziert, wenn von der Erstinfektion her noch vermehrungsfähige Keime vorhanden sind, dann spricht man von einer Superinfektion.

Eine Reinfektion liegt dann vor, wenn ein Wirt nach Überstehen einer Infektion, das heißt zu einem Zeitpunkt, an

dem keine vermehrungsfähigen Erreger mehr vorhanden sind, mit dem gleichen Erreger wieder neu infiziert wird (1, 39).

Die Folgen einer Mischinfektion sind abhängig von:

1. Der Art der beteiligten Erreger,
2. der Pathogenität und Virulenz dieser Erreger,
3. den Wechselbeziehungen zwischen den Erregern, dem Wirt und der Umwelt.

Nach der Art der beteiligten Erreger lassen sich die Mischinfektionen in verschiedene Gruppen gliedern, z.B. in virale, bakterielle oder Mischinfektionen durch unterschiedliche Erregerarten. Selbstverständlich können aber auch Infektionen durch Pilze oder ein- bzw. mehrzellige Parasiten an einem derartigen Geschehen beteiligt sein.

Das Schicksal einer Mischinfektion und ihre Auswirkungen auf den Gesamtorganismus werden daneben durch die Pathogenität und Virulenz der beteiligten Erreger sowie den Wechselbeziehungen, die zwischen ihnen entstehen, bestimmt. Dabei ist es durchaus nicht so, daß das Zusammentreffen hochpathogener Erreger stets eine Verschlechterung des Krankheitsverlaufes zur Folge hat und eine Mischinfektion mit fakultativ pathogenen Keimen immer harmlos bleibt.

So können z.B. sehr unterschiedliche Erregerarten zu gleicher Zeit in einem Organismus vorkommen, ohne sich gegenseitig zu beeinflussen. Ausschlaggebend hierfür sind z.B. die Besonderheiten ihrer Vermehrung, der Ort der Infektion und anderes. Das heißt, nicht nur apathogene

—und fakultativ-pathogene Erreger können gleichzeitig einen Körper infizieren, ohne Einfluß auf den Infektionsmodus des anderen Erregers auszuüben. Es ist durchaus möglich, daß ein derartiges Geschehen auch bei Mischinfektionen mit pathogenen Erregern beobachtet werden kann. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß Auswirkungen auf den Gesamtorganismus nicht oder kaum entstehen. Dies trifft beispielsweise für bestimmte lokale Infektionen zu. Bei viralen Mischinfektionen ist dieses Phänomen sogar auf der zellulären Ebene möglich. SYVERTON et al. und ANDERSON stellten bei einer Herpes und Vaccinevirus Mischinfektion fest, daß sich das Herpesvirus im Kern und das Vaccinevirus im Zytoplasma unabhängig voneinander vermehren (4, 59). Allerdings ist der Zustand der fehlenden gegenseitigen Beeinflussung zwischen zwei oder mehreren zugleich im Organismus ablaufenden Infektionen sehr labil. Äußere und innere Faktoren können dieses labile Gleichgewicht zwischen den vorhandenen Erregerarten auf der einen und dem Organismus und der Umwelt auf der anderen Seite sehr leicht zerstören. So kann zum Beispiel irgend ein Streß die Ausbreitung einer der bestehenden Infektionen zur Folge haben. Damit verändert sich die Reaktionslage des Wirtes, wodurch indirekt auch die andere Infektion beeinflusst wird.

Auch antagonistische Wechselbeziehungen zwischen Erregerarten sind in der Natur sehr weit verbreitet. Es sei nur daran erinnert, daß die natürliche Keimflora an den Schleimhäuten, allen Körperöffnungen und an der äußeren Haut letztlich durch antagonistische Wechselbeziehungen mit pathogenen Erregern den Körper vor Infektionen schützen, denen er sonst ausgesetzt wäre.

Die moderne Medizin hat sich diese Erkenntnisse häufig zu Nutze gemacht. Als Beispiel seien die Antibiotika genannt. Sie sind ja bekanntlich nichts anderes als Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, die in der Lage sind, andere Mikroorganismen in ihrer Vermehrung zu hemmen oder sie sogar abzutöten.

Der Antagonismus zwischen apathogenen Keimen, die in der normalen Flora des Nasen-Rachen-Raumes vorkommen, und echten Krankheitserregern läßt sich ebenfalls medizinisch ausnutzen. So konnten MAYR et al. (38) neugeborene Kälber durch die Applikation eines Gemisches von apathogenen Bakterien sofort nach der Geburt vor den gefürchteten respiratorischen Erkrankungen der Neugeborenenphase schützen.

Schließlich können aber auch Erreger, die an einer Mischinfektion beteiligt sind, sich gegenseitig begünstigen und damit den Infektionsverlauf mehr oder weniger stark intensivieren. Ein derartiger Synergismus kann durch pH-Verschiebungen, Angebot bestimmter essentieller Nährstoffe, Austausch von Gen-Teilstücken, Immunsuppression durch die eine Erregerart und vieles andere mehr zustande kommen. Wichtig ist es dabei, daß für diese Vorgänge die Pathogenität oder Virulenz der Erreger eine untergeordnete Rolle spielt. Das heißt, ein Synergismus ist durchaus auch zwischen fakultativ pathogenen Keimen möglich. Hierin liegt die besondere Gefahr von Mischinfektionen: Völlig harmlose und in der Population weit verbreitete Keime können so durch das synergistische Zusammenwirken mit einer anderen Erregerart plötzlich aktiviert werden und den Übergang von der Infektion in die Krankheit ermöglichen.

In vielen Fällen dürften infektiöse Faktorenerkrankungen durch derartige Vorgänge verursacht werden. Unter einer infektiösen Faktorenerkrankung versteht man eine gestörte Leistungsfunktion, die dadurch zustande kommt, daß normalerweise harmlose Infektionen durch nicht mikrobielle Faktoren gehäuft zu klinischen Krankheitserscheinungen führen. Das heißt, für die Ätiologie dieser Erkrankungen sind zwar - wie der Name sagt - bestimmte Erreger oder Erregerkombinationen, für das Übergehen der Infektion in eine Krankheit dagegen die nicht mikrobiellen Faktoren innerer (hormonelle Dysfunktion, Immunsuppression, körperliche und psychische Belastungen, Fehlernährung, usw.) und äußerer Art (Abkühlung, Transport, "crowding", Klimawechsel, usw.) verantwortlich (40).

Ausgangspunkt einer infektiösen Faktorenerkrankung können demnach klinisch inapparente Infektionen mit fakultativ pathogenen Erregern sein, die durch irgendwelche ungünstigen Umweltbedingungen oder auch innere Stressoren aktiviert werden. Ihr synergistisches Zusammenwirken führt dann letztlich zur Erkrankung.

### 2.1.2. Virale Mischinfektionen

Da die Viren obligate Zellparasiten sind, kann es schon auf der zellulären Ebene zu sehr engen und intensiven Wechselbeziehungen zwischen den an der Mischinfektion beteiligten Virusarten kommen. Daneben gibt es direkte und indirekte Wechselbeziehungen durch die Reaktionen des Wirtsorganismus. Zu den direkten Wechselbeziehungen gehören die Beeinträchtigung der Vermehrungsbedingungen durch die Schädigung von Zellen, Geweben und Organen, zu den indirekten die Erhöhung oder Erniedrigung der Immunität oder der Resistenz (37).

Beim Rind sind eine große Zahl von viralen Mischinfektionen beschrieben worden (17, 44, 52, 53, 56, 65). Häufig konnte dabei aber nicht eindeutig nachgewiesen werden, ob das Zusammentreffen der verschiedenen Erreger für den Ausbruch der beobachteten Krankheit verantwortlich war oder ob sie nur zufällig nebeneinander im gleichen Organismus persistierten. Aus diesem Grunde soll die vorhandene Literatur unter diesen Aspekten diskutiert werden.

Zu den Mischinfektionen beim Rind, bei denen ein Zusammenhang zwischen den beschriebenen Krankheitssymptomen und dem Vorkommen bestimmter Virusinfektionen nicht eindeutig geklärt wurde, gehören zum Beispiel folgende:

1958 brach in Umea (Schweden) eine Erkrankung von "Mucosal Disease"-Typ mit respiratorischen Symptomen aus. BAKOS und DINTER wiesen direkt durch Virusisolierung und über quantitative Antikörperbestimmungen eine Mischinfektion mit Parainfluenza-3 und Virusdiarrhoe nach (17). Die Autoren nehmen

an, daß bei der Umea-Krankheit die respiratorischen Symptome von der Infektion mit dem Parainfluenza-3-Virus und die Symptome seitens des Verdauungskanals von der Infektion mit dem Virusdiarrhoe-Virus herrührten.

Aus der Schweiz berichten STECK et al. über 153 Mastkälber. Sie stammten aus verschiedenen Beständen. Etwa eine Woche nach der gemeinsamen Aufstallung traten Mischinfektionen mit Parainfluenza-3-Virus und Virusdiarrhoe-Virus auf (56). Die Kälber zeigten respiratorische und intestinale Symptome. Die Annahme, daß möglicherweise ein einzelnes Agens besonders schwerwiegende klinische Erscheinungen hervorrufen würde, ließ sich nicht bestätigen.

NITZSCHKE führte diagnostische Untersuchungen über verschiedene Virusinfektionen in 86 Rinderbeständen der Rheinland-Pfalz durch. Dort waren akute Erkrankungen, Fertilitätsstörungen oder Aborte aufgetreten. Er wies Mischinfektionen mit Mucosal Disease-Virus und Parainfluenza-3-Virus, Mucosal Disease-Virus und Enteroviren sowie infektiöses bovines Rhinotracheitis-Virus und Enteroviren nach, konnte aber keine ursächlichen Beziehungen herstellen (44).

Häufig wurde die Beantwortung der Frage nach der Ätiologie einer Erkrankung auch durch technische Probleme erschwert. So konnte FERNELIUS (22) bei seinen Untersuchungen nicht genau sagen, ob eine bei Rindern in North Dakota festgestellte Mucosal Disease-artige Erkrankung eine Mischinfektion mit infektiösem bovinem Rhinotracheitis-Virus und Mucosal Disease-Virus war, oder ob seine zur Isolierung benutzte Zellkultur kontaminiert war.

BÖGEL (9) isolierte aus Kälbern, die in einem kleinen Bestand Südwürttembergs standen, Parainfluenza-3-Viren aus Nasentupferproben und Enteroviren aus Kotproben. Er stellte die Frage zur Diskussion, ob eines dieser Agenzien für sich allein respiratorische Symptome beim Kalb verursachen kann und welche Bedeutung den anderen Virusstämmen zukommt.

Eine Rindererkrankung, bei der eindeutig nachgewiesen werden konnte, daß das Zusammenwirken der Erreger für den Ausbruch und den Verlauf der Erkrankung verantwortlich war, ist die "Rindergrippe" (51, 52, 53, 65). Von viralen Erregern sind Parainfluenza-3-Viren, Reo-Viren und Adeno-Viren nachgewiesen worden, so daß WIZIGMANN zu folgender Definition gelangt: Die Rindergrippe ist eine durch virale Mischinfektionen bedingte Erkrankung unter der Mitbeteiligung von Stressoren, mangelnder Immunität und sekundärer Bakterienbeteiligung.

### 2.1.3. Bakterielle Mischinfektionen

Mischinfektionen von Bakterien unterscheiden sich von viralen dadurch, daß die Bakterien keine unbedingten Zellparasiten sind. Ihre Wechselbeziehungen finden deshalb auch überwiegend auf der Ebene des Gesamtorganismus statt. Außerdem können Bakterienzellen direkt aufeinander einwirken, weil sie die Vermittlung der Wirtszelle nicht benötigen. Auch bei bakteriellen Mischinfektionen ist ein Nebeneinander ohne gegenseitige Beeinflussung möglich. Sie sind deshalb relativ häufig, weil die Bakterien nicht auf die Synthesezentren der Wirtszellen angewiesen sind. Die synergistischen bakteriellen Mischinfektionen betreffen meist spezifisch pathogene Erreger zu denen fakultativ pathogene oder apathogene Erreger hinzukommen, wobei die spezifisch pathogenen Erreger verstärkt werden. Antagonistische Wechselbeziehungen finden auf der Haut, den Schleimhäuten und im Darm statt. Dadurch wird der Wirt vor pathogenen Erregern geschützt.

#### 2.1.4. Mischinfektionen durch unterschiedliche Erregerarten

Mischinfektionen durch unterschiedliche Erregerarten sind Mischinfektionen, an denen zum Beispiel Viren und Bakterien beteiligt sind. Da hier sehr unterschiedliche Erregerarten das Infektionsgeschehen bestimmen, ergeben sich eine Vielzahl von möglichen Wechselbeziehungen. Diese finden zwischen den Erregern, dem Wirt und der Umwelt statt und je nach dem zeitlichen Ablauf ist der Ausgang des Infektionsgeschehens ein anderer.

Häufig schafft eine Virusinfektion die Basis für eine nachfolgende Infektion mit Bakterien (39). Ein Beispiel hierfür sind die respiratorischen Erkrankungen der Rinder, die unter dem Namen "shipping fever", "Rindergrippe", und anderen beschrieben worden sind. Verschiedene Autoren haben hierbei Infektionen mit Parainfluenza-3-Viren, Reo-Viren und Adeno-Viren nachgewiesen, von bakterieller Seite waren vor allem P. multocida und P. hämolytica beteiligt (51, 52, 53, 65).

Auch STECK et al. stellten bei ihren ätiologischen Untersuchungen über virale und bakterielle Infektionen in Kälber- und Rindermastbetrieben Mischinfektionen mit der Beteiligung von Parainfluenza-3-Viren, bovinen Virusdiarrhoe-Viren, Adeno-Viren und infektiösen bovinen Rhinotracheitis-Viren sowie von Pasteurellen, Corynebakterien und Mycoplasmen fest (56).

## 2.2.        Vorkommen von Mycoplasmen beim Rind

### 2.2.1.    Allgemeines

Die Mycoplasmen wurden als Krankheitserreger erstmalig bei der Lungenseuche des Rindes von NOCARD und ROUX 1898 entdeckt und isoliert (45). Mikroorganismen, die eine gewisse Übereinstimmung mit den Eigenschaften des Lungenseuchenerregers zeigten, erhielten deshalb die Bezeichnung "pleuro-pneumonia-like-organisms" (PPLÖ). Erst 1929 führte NOWAK den Gattungsbegriff "Mycoplasma" ein (46).

In neuerer Zeit wird ihre ätiologische Rolle - außer bei der Lungenseuche und bei der Pneumonie - auch bei der Mastitis, Arthritis und bei Genitalinfektionen des Rindes diskutiert.

Tabelle 1: Klassifizierung der bisher beim Kind isolierten Mycoplasmen (7, 23, 35, 42, 60).

Ordnung: Mycoplasmatales

Familie: Mycoplasmataceae

Genus: Mycoplasma

| Serologische Gruppe | Spezies                    | Isolierung bei                              | Literatur                     |
|---------------------|----------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------|
| 1                   | M.mycoides<br>var.mycoides | Pleuropneumonie                             | Nocard,<br>Roux, 1898         |
| 2                   | M.bovigenitalium           | Mastitis,<br>Vaginitis                      | Edward, 1947                  |
| 3                   | M.laidlawii                | saprophytär                                 | Laidlaw, 1936                 |
| 4                   | M.bovirhinis               | Pneumonie,<br>Mastitis                      | Harbourne, 1965               |
| 5                   | M.bovimastitidis           | Mastitis,<br>Arthritis,<br>Genitalinfektion | Hale, 1962,<br>Hartmann, 1964 |
| 6                   | ohne Namen                 | Pneumonie,<br>Enteritis                     | Langer, 1963                  |
| 7                   | ohne Namen                 | Mastitis,<br>Arthritis                      | Simmons, 1963                 |
| 8                   | ohne Namen                 | Respirations-<br>trakt                      | Hudson, 1963                  |
| 9                   | M.dispar                   | Pneumoenteritis                             | Gourlay, 1970                 |
| 10                  | M.arginini                 | Pneumonie                                   | Leach, 1970                   |
| T-Myco-<br>plasmen  | ohne Namen                 | Pneumonie                                   | Taylor-<br>Robinson, 1967     |

Tabelle 2: Überblick über die Isolierung von Mycoplasmen-Serotypen bei verschiedenen Rindererkrankungen

| Krankheitskomplex   | isolierte Serotypen | Krankheitssymptome experimentell zu erzeugen mit | Literatur                    |
|---------------------|---------------------|--------------------------------------------------|------------------------------|
| Pneumonie           | 1                   | 1                                                | Nocard, Roux, 1898           |
|                     | 3                   | -                                                | Edward, 1956                 |
|                     | 4                   | -                                                | Harbourne, 1965              |
|                     | 6                   | -                                                | Langer, 1963                 |
|                     | 7                   |                                                  | Nicolet, 1970                |
|                     | 8                   |                                                  | Hudson, 1963                 |
|                     | 9                   |                                                  | Gourlay, 1970                |
|                     | 10                  |                                                  | Leach, 1970                  |
|                     | T-Myco-plasmen      | T-Mycoplasmen                                    | Gourlay, 1972                |
|                     |                     |                                                  |                              |
| Mastitis            | 2                   | 2                                                | Stuart, 1963                 |
|                     | 4                   | 4                                                | Langer, 1963                 |
|                     | 5                   | 5                                                | Hale, 1962, Carmichael, 1963 |
|                     | 7                   |                                                  | Conole, 1966                 |
| Arthritis           | 1                   | 1                                                | Meyer, 1910                  |
|                     | 5                   |                                                  | Jasper, 1966                 |
|                     | 7                   | 7                                                | Simmons, 1963                |
| Genitalerkrankungen | 2                   | 2                                                | Edward, 1947                 |
|                     | 5                   | 5                                                | Hartmann, 1966, Afshar, 1966 |

### 2.2.2. Erkrankungen mit Mycoplasmenbeteiligung beim Rind

Die beschriebene Klassifizierung der beim Rind vorkommenden Mycoplasmen erfolgte auf Grund ihrer serologischen Unterschiede. Bei der kritischen Durchsicht der vorhandenen Literatur stellt man fest, daß bestimmte Serotypen bei ganz unterschiedlichen Krankheitsbildern vorkommen können; das heißt je nach Alter, Kondition und Disposition des Tieres, wie auch in Abhängigkeit vom Infektionsort, kann es zu sehr unterschiedlichen Symptomen und Schädigungen kommen.

#### 2.2.2.1. Lungenseuche

(Pleuropneumonia contagiosa bovm, anzeigepflichtig, V.G. 27.2.69, § 10 (1) Nr. 5)

Die Lungenseuche gilt als eine der ältesten klassischen Rinderseuchen (21), die in früheren Jahrhunderten weltweit verbreitet und unter verschiedenen Namen (Lungenfäule, Lungenlähmung, brandige Lungenentzündung) bekannt war. Heute kommt sie noch in Afrika, Australien und neuerdings wieder in Spanien und Portugal (TURNER, 61) vor.

Die Infektiosität dieser Seuche wurde schon von CHABERT (11) 1793 beschrieben und durch WILLEMS (64) experimentell bewiesen. Französische Forscher (NOCARD und ROUX, 45) isolierten als erste den Erreger durch die Anzüchtung auf serumhaltigen, flüssigen und festen Nährböden. Die

hierbei beobachteten verzweigten und sternförmigen Gebilde waren der Hauptgrund für die Empfehlungen, diese Erreger als Asterococcus mycoides, Borellomyces peripneumoniae, Mycoplasma mycoides u.a. zu bezeichnen (49).

Dieser für die Lungenseuche als gesichert geltende Primärerreger wird heute Mycoplasma mycoides var. mycoides genannt. Außer Lungenveränderungen und entzündlichen Ödemen konnte MEYER (41) 1910 beim erwachsenen Rind durch die Infektion mit erregerhaltigem Exsudat eine Arthritis und Synovitis experimentell erzeugen.

Die Übertragung der Lungenseuche erfolgt durch Tröpfcheninfektion. Die Empfänglichkeit der Rinder ist je nach den Haltungsbedingungen unterschiedlich. In akuten Fällen ist ein Fieberanstieg festzustellen; in der Hauptsache handelt es sich jedoch meist um eine chronisch verlaufende Kontaktseuche, die von vielfältigen Faktoren beeinflusst wird. Die Lungenveränderungen sind durch interlobuläre Ödeme, serofibrinöse Pleuritis und Thrombosen in Lymph- und Blutbahnen gekennzeichnet. Eine überstandene Krankheit hinterläßt eine Immunität. Dauerausscheider nach klinischer Genesung sind bekannt und für die Epizootologie und Bekämpfung der Seuche von entscheidender Bedeutung (13, 16, 21, 49).

#### 2.2.2.2. Mastitis

Über die erste Isolierung von Mycoplasmen aus dem Euter bzw. der Milch von Rindern, die an Mastitis erkrankt waren, berichteten DAVIDSON und STUART (58). Weitere Berichte

folgten aus aller Welt (10, 25, 31, 57). Folgende serologische Gruppen sind von verschiedenen Autoren mit Mastitiden in Zusammenhang gebracht worden:

#### Serotyp 2, M.bovigenitalium

Ein Erreger dieses Serotypes wurde in England bei einem Herdenausbruch von Mastitis im Eutersekret mehrerer erkrankter Kühe isoliert. Später konnte durch Tierversuche nachgewiesen werden, daß der Erreger bei Rindern Mastitis hervorruft (58).

#### Serotyp 4, M.bovirhinis

M.bovirhinis wurde in den USA von Kälbern mit "Pneum-enteritis" auch von dem erkrankten Euter des Muttertieres eines dieser Kälber isoliert. Den Autoren gelang es experimentell mit dem reingezüchteten Isolat eine Mastitis auszulösen (34).

#### Serotyp 5, M.agalactiae var. bovis oder M.bovimastitidis

Der Serotyp 5, M.agalactiae var. bovis konnte bei mehr als 20 Herdenausbrüchen von Mastitis im Milchsekret erkrankter Kühe in den USA festgestellt und im Tierversuch als Erreger bestätigt werden (10, 25).

#### Serotyp 7, (ohne Namen)

Auch dieser Erregerstamm ist einem Zitat nach LEACH zufolge von Kühen mit Mastitis isoliert worden (12).

KARBE wies nach, daß eine klinische Unterscheidung zwischen Serotyp 2 und Serotyp 5 möglich ist; außerdem seien seines

Wissens nach die Mastitisausbrüche die STERN et al. (57) und BAR-MOSHE (6) beschrieben haben, noch nicht eingeordnet (32).

### 2.2.2.3. Arthritis

Die Infektion mit M.mycoides variatio mycoides, des Erregers der Lungenseuche kann Experimenten von MEYER zufolge auch zu Arthritis und Synovitis führen. Er erzeugte "durch Vakzinierung mit virulentem Exsudat" eine Arthritis und Synovitis.

### Serotyp 5, M.bovimastitidis

In Kalifornien wurde M.bovimastitidis aus den Gelenkhöhlen von Tieren angezüchtet, die neben einer Mastitis auch eine Arthritis, besonders der Karpalgelenke, gezeigt hatten (31).

PIGNATELLI isolierte aus den Gelenken von importierten Mastkälbern bei 28 % Mycoplasmen. Sie waren an Polyarthritiden und Pneumonie erkrankt. Weitaus am häufigsten traf er M.bovimastitidis an (47).

### Serotyp 7, (ohne Namen)

SIMMONS berichtete über diesen Serotyp aus Australien. Dort wurde er bei jungen Kälbern nachgewiesen, die an Arthritiden erkrankt waren. Die Mycoplasmen wurden in der Gelenkflüssigkeit und in der septikämischen Phase auch im Blut gefunden. Die Reproduktion der Erkrankung gelang mit den reingezüchteten Erregern (55).

#### 2.2.2.4. Genitalerkrankungen einschließlich Aborte

##### Serotyp 2, M.bovigenitalium

M.bovigenitalium wurde in England aus Scheidensekret und Bullensamen in einem Rinderbestand isoliert, in dem Fertilitätsstörungen und Verwerfen unbekannter Genese aufgetreten waren sowie Zervizitis, Salpingitis und Bursitis beobachtet worden sind (19). AFSHAR et al. war es möglich, mit M.bovigenitalium experimentell eine Vulvovaginitis zu erzeugen (2).

##### Serotyp 5, M.bovimastitidis

Experimentell gelang es mit diesem Serotyp nach intra-uteriner Installation bei Färsen eine Endometritis und Salpingitis mit Sterilität zu erzeugen (27).

ALBERTSEN untersuchte in Dänemark 35 klinisch gesunde Bullen und stellte fest, daß in 33 Spermaproben Mycoplasmen waren. Er nahm an, daß die Mycoplasmen saprophytär seien, weil sie so weit verbreitet waren (3).

Auch BAKOS et al. fanden Mycoplasmen im Praeputialsack oder der Urethra bei gesunden Bullen. Sie messen den Mycoplasmen keine pathogene Bedeutung bei (5).

BLOM et al. untersuchten dänische Besamungsbullen und kommen zu folgendem Ergebnis (8):

- a) Im Normalfall sind Mycoplasmen Kommensalen im Genitaltrakt des Bullen; in seltenen Fällen erzeugen sie eine Vesiculitis.

- b) Die Häufigkeit von Mycoplasmenbefunden ist von Ort zu Ort sehr unterschiedlich, ALBERTSEN's hohe Zahlen (siehe oben) resultieren möglicherweise aus einer zu geringen Untersuchungszahl.

#### 2.2.2.5. Respiratorische Erkrankungen

##### Serotyp 1, M.mycoides var. mycoides

M.mycoides var. mycoides, der Erreger der Lungenseuche, wurde unter 2.2.2.1. beschrieben.

Über die ätiologische Bedeutung aller anderen, bisher bei respiratorischen Erkrankungen von Kälbern und Rindern nachgewiesenen Serotypen von Mycoplasmen herrscht noch weitgehend Unklarheit.

##### Serotyp 3, M.laidlawii

Dieser von EDWARD et al. beschriebene Serotyp wurde von GOURLAY et al. bei gesunden Kälbern nachgewiesen (20, 24). Er gilt allgemein als Saprophyt.

##### Serotyp 4, M.bovirhinis

NICOLET et al. (42) und GOURLAY (24) isolierten M.bovirhinis aus den Atemwegen von gesunden und kranken Kälbern, die respiratorische Symptome zeigten. Sie bezweifeln, daß M.bovirhinis eine Pathogenität für das Rind besitzt, da experimentelle Infektionen mißlangen.

#### Serotyp 6, (ohne Namen)

LANGER et al. fanden den Serotyp 6 gehäuft bei Kälbern mit Lungenentzündung (34). Die Autoren äußerten aber die Ansicht, daß möglicherweise erst eine Virusinfektion notwendig war, um die Mycoplasmeninfektion zu ermöglichen. Die Isolierung einer Virusart wurde jedoch nicht beschrieben.

#### Serotyp 7, (ohne Namen)

NICOLET et al. wiesen den Serotyp 7 bei Untersuchungen über die "Pneumoenteritis" der Kälber vereinzelt nach, messen ihm aber keine pathogene Bedeutung bei (42).

#### Serotyp 8, (ohne Namen)

Der Serotyp 8 wurde aus dem Nasengang von Kälbern isoliert, die klinisch gesund waren. Bei diesen Tieren konnten auch keine Antikörper gegen diesen Serotyp gefunden werden (30).

#### Serotyp 9, M.dispar

GOURLAY und LEACH stellten Infektionen mit M.dispar sowohl bei gesunden wie auch bei Kälbern mit Lungenentzündung fest. Sie halten ihn nicht für pathogen (23, 24).

#### Serotyp 10, M.arginini

NICOLET isolierte M.arginini bei seinen Untersuchungen über die "Pneumoenteritis" relativ häufig (42). Er ist jedoch der Ansicht, daß dieser Erreger nicht primärpathogen sei (43).

GOURLAY et al. hielten T-Mycoplasmen für potentiell pathogen, da sie bisher nur bei kranken Tieren gefunden wurden und experimentell wieder Pneumonien erzeugten (24). NICOLET mißt ihnen jedoch keine entscheidende Rolle bei (43).

### 3. E I G E N E   U N T E R S U C H U N G E N

#### 3.1. Material und Methoden

##### 3.1.1. Tiermaterial \*

Für die Probenentnahmen standen Kälber aus 30 Beständen Oberschwabens zur Verfügung. Das Alter der Tiere reichte von einer Woche bis zu sieben Monaten. Die hygienischen Voraussetzungen der Betriebe waren im Durchschnitt befriedigend. Um einen möglichst umfassenden Überblick über das Vorkommen von Mycoplasmen bei gesunden und kranken Kälbern zu gewinnen, sind sowohl lebende wie auch geschlachtete Tiere untersucht worden. Es wurde dabei darauf geachtet, daß die gleiche Anzahl positiver Anzüchtungen bei gesunden und kranken Kälbern gelang. Daraus ergaben sich folgende Gruppen:

1. Von 21 lebenden, gesunden Kälbern, die in 3 Betrieben in der Gemeinde Aulendorf standen, sind Nasen-Rachen-Tupferproben genommen worden.
2. Von 26 lebenden, kranken Kälbern sind ebenfalls Nasen-Rachen-Tupferproben untersucht worden. Als kranke Tiere galten solche, die akute oder chronische respiratorische Symptome zeigten.

---

\* Für die Überlassung des Tiermaterials danke ich den Herren Kollegen Blumenschein, Braun, Gossger sen., Jahn, Klaus und Müller sowie den Fleischbeschautierärzten.

3. Von 48 gesunden, geschlachteten Tieren, die zum überwiegenden Teil aus dem Schlachthof der Stadt Friedrichshafen stammten, sind Bronchialtupferproben und Lungenorganproben auf das Vorkommen von Mycoplasmen geprüft worden.
4. Von 25 krank geschlachteten oder verendeten Tieren, die entweder durch entsprechende Einsendungen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung ins Staatliche Tierärztliche Untersuchungsamt Aulendorf gelangten oder von verendeten Tieren aus der pathologischen Abteilung stammten, sind Bronchialtupferproben und Lungenorganproben angezüchtet worden.

### 3.1.2. Gewinnung der Untersuchungsproben

Von allen lebenden Tieren sind Nasen-Rachen-Tupferproben auf folgende Weise gewonnen worden: Ein Gummischlauch, in dem ein Plombierdraht verlief und an dessen Spitze Watte eingedreht war, diente als Entnahmegerät (43). Der Tupfer wurde kurz vor der Verwendung in gepufferter Peptonlösung angefeuchtet und im Schlauch in den unteren Nasengang eingeführt. Im Nasen-Rachengang wurde der Plombierdraht ausgefahren, Material gewonnen und wieder eingezogen. Nach der Entnahme ist der Tupfer in gepufferter Peptonlösung transportiert worden.

Von den Tieren der Gruppe 3 und 4 sind Bronchialtupferproben und Lungenorganproben untersucht worden. Die Probenentnahmen sind folgendermaßen durchgeführt worden:

- a) Die Trachea wurde über dem Spitzenlappen eröffnet und der oben beschriebene Gummischlauch wurde in Richtung Lunge eingeführt, bis die enger werdenden Bronchialäste ein Weiterschieben verhinderten. Die weitere Durchführung war gleich wie bei den Nasen-Rachen-Tupfern.
- b) Für die Gewinnung der Lungenorganproben ist ein entsprechend großer Lungenbezirk abgeflammt und anschließend ein Würfel von 1 cm Kantenlänge mit sterilem Besteck herausgeschnitten worden.

### 3.1.3. Anzüchtung

#### 3.1.3.1. Nährmedien

Für die Anzüchtung wurden gleichzeitig folgende Nährmedien verwendet:

1. Fester Nährboden
2. flüssiges Nährmedium
3. biphasisches Nährmedium

#### ad 1. Fester Nährboden

Der zur Anzüchtung benutzte feste Nährboden ist ein von DEDIE modifizierter WHITTLESTONE-SERUMAGAR folgender Zusammensetzung (15):

|        |                                                                                           |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 70 ml  | Bouillon (tryptisch verdaut nach ROOTS aus Pferdefleisch)                                 |
| 10 ml  | 5%ige wässrige Lösung von Laktalbuminhydrolysat für Gewebekulturen (Serva Nr. 27400)      |
| 20 ml  | bei 60°C und 20 Minuten inaktiviertes Schweineserum von spezifisch pathogen freien Tieren |
| 0,5 ml | Hefeextrakt nach HERDERSCHÉE aus Bäckerhefe                                               |
| 50 000 | I.E. Penicillin G-Natrium                                                                 |
| 1 ml   | 1%ige wässrige Cystin-Lösung (Merck Nr. 2836)                                             |
| 0,5 ml | 1:30 wässriges Thalliumacetat (Riedel Nr. 9714)                                           |
| 0,5 ml | Desoxyribonucleinsäure (Serva Nr. 18580)                                                  |
| 0,5 ml | Glycerin (Merck Nr. 4094)                                                                 |
| 0,1 ml | Glucose auf 100 ml Bouillon (Merck Nr. 8342)                                              |
| 1,4 g  | Agar (Oxoid Nr. L 28)                                                                     |

## Herstellung der Bouillon nach ROOTS

750 g entfettetes und entsehtes, durch den Wolf gedrehtes Pferdemuskelfleisch wird in 1250 ml Leitungswasser auf 80°C erwärmt. Anschließend wird 1250 ml 0,8%ige wasserfreie Sodalösung dazugegeben und auf 45°C abgekühlt. Danach gibt man 25 ml Chloroform und 10 g Pankreatin zu und stellt das Gemisch bei 37°C für 12 Stunden in den Brutraum. Dort soll es mehrmals geschüttelt werden. Nach Zugabe von 20 ml 25%iger Salzsäure und einer halben Stunde Dampftopf bei 96°C wird heißfiltriert. Das abgekühlte Gemisch wird mit Natronlauge auf pH 8,4 eingestellt, anschließend eine Stunde gekocht, filtriert und autoklaviert.

## DULBECCO-Lösung

|                                                     |        |
|-----------------------------------------------------|--------|
| Na Cl                                               | 40     |
| $\text{Na}_2 \text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 5,75   |
| K Cl                                                | 1,0    |
| $\text{K H}_2 \text{PO}_4$                          | 1,0    |
| $\text{Mg Cl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$         | 0,5    |
| aq. dest ad                                         | 1000,0 |

Die gebrauchsfertige Bouillon besteht aus 30 Teilen obiger Pferdefleischbrühe und 40 Teilen einer verdünnten Salzlösung nach DULBECCO. Die DULBECCO-Lösung wird mit voll entsalztem Wasser von pH 7,2 eins zu fünf verdünnt.

Die Herstellung des Hefeextraktes erfolgt nach HERDERSCHEE, 50 g frische Bäckerhefe werden in 100,0 ml 0,2 molarer Monokaliumphosphatlösung aufgeschwemmt, 20 Minuten auf 80 - 85°C gehalten, abzentrifugiert und durch Papier gefiltert.

ad 2. Flüssiges Nährmedium

Für den flüssigen Nährboden gilt das gleiche Rezept, jedoch ohne Agar und Desoxyribonucleinsäure. Um das Wachstum in den Röhrchen am Farbumschlag kontrollieren zu können, werden 100 ml Medium 0,4 ml Phenolrot (wässrig 1 : 1000) zugegeben.

ad 3. Biphasisches Nährmedium

Zur Herstellung des biphasischen Nährmediums werden Schrägagarröhrchen mit flüssigem Nährmedium überschichtet.

Für die biochemische Prüfung ist die gebrauchsfertige Pferdefleischbouillon mit folgenden Zusätzen verwendet worden:

- a) Glucose: 5 ml einer 10%igen wässrigen Glucoselösung (Merck Nr. 8342) und 0,24 ml Phenolrot (1 : 1000) auf 100 ml
- b) TTC : 3,04 ml 1%ige wässrige TTC-Lösung (Serva Nr. 37130) auf 100 ml
- c) Arginin: 0,5 g Arginin (Merck Nr. 1542) auf 100 ml

Der zum Wachstumsvergleich benutzte EDWARDS-Nährboden hat folgende Zusammensetzung:

|           |                                                                 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------|
| Zu 100 ml | PPLO-Agar (Difco Nr. 0412-02)                                   |
| 2,0       | Tryptose (Difco Nr. 0623-02)                                    |
| 0,1       | Hefeextrakt (Merck Nr. 3735)                                    |
| 0,5       | Dextrose (Merck Nr. 8342)                                       |
| 0,5       | Glycerin (Merck Nr. 4094)                                       |
| pH 7,4    |                                                                 |
| 20 %      | Schweineserum 20 Minuten bei 60°C inaktiviert                   |
| 0,1 ml    | (20 000 I.E.) Penicillin G-Natrium                              |
| 1,0 ml    | wässriges 1 : 30 verdünntes Thalliumacetat<br>(Riedel Nr. 9714) |

### 3.1.3.2. Technik der Anzüchtung

Die Tupfer bzw. die Lungenwürfel sind auf dem festen Nährboden direkt ausgestrichen worden. Anschließend wurde die eine Hälfte des Materials in flüssiges Nährmedium verbracht, die andere Hälfte in eines mit fester und flüssiger Phase.

Zweiphasiges und flüssiges Nährmedium sind im Brutschrank bei 37°C bis zum Farbumschlag bebrütet worden. Der feste Nährboden benötigte 7 Tage anaerobe Bebrütung bei 37°C. Trat nach der dritten Blindpassage kein Wachstum auf, wurde die Anreicherung abgebrochen.

### 3.1.4. Differenzierung der isolierten Mycoplasmen- stämme

#### 3.1.4.1. Kulturelle Differenzierung

Auf dem festen Nährboden wurde das Kolonienwachstum mit dem Präpariermikroskop registriert und beurteilt. Von positiven Platten sind so lange Subkulturen angelegt worden, bis dreimal hintereinander ein einheitliches Kolonienwachstum festzustellen war. Dann wurde die Kolonieform bestimmt.

Anschließend ermittelte man das Temperaturoptimum auf festem Nährboden durch Bebrüten bei 20°C und bei 37°C. Außerdem ist das Wachstum auf EDWARDS-Nährboden und auf gewöhnlichem Blutagar verglichen worden.

#### 3.1.4.2. Biochemische Differenzierung

Zur biochemischen Prüfung wurden der Abbau von Glucose, die Desiminierung von Arginin und die Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) durchgeführt.

Der zu prüfende Stamm wurde auf flüssigem Nährboden in Passagen überimpft und auf Reinheit kontrolliert. Von der Kultur sind je 0,1 ml in 2,5 ml Arginin-, Glucose- und TTC-Nährboden gegeben worden. Die Bebrütung erfolgte bei 37°C, abgelesen wurde am 2., 4. und 6. Tag. Am 2. Tag ist außerdem stets von jedem Röhrchen eine Kontrolle auf festem Nährboden angelegt worden.

### 3.1.4.3. Serologische Differenzierung

#### 3.1.4.3.1. Herstellung der Antigene

Nach positivem Plattenwuchs ist ein Agarblock in flüssiges Nährmedium verbracht worden, das bei 37°C bis zum Farbumschlag bebrütet wurde. Dann wurde als Reinheitskontrolle eine Blutplatte angelegt und eine Gramfärbung gemacht. 2 ml der Vorkultur überimpfte man in 100 ml der vorher beschriebenen Bouillon. War auch diese umgeschlagen, so wurde der pH-Wert gemessen, eine Kontrollplatte angelegt, eine Mycoplasmenfärbung angefertigt und die Stärke des Farbumschlages sowie der Trübung festgestellt.

Die umgeschlagene Bouillon wurde 40 Minuten in einer Omikron-Zentrifuge bei einem G-Wert von 30 000 durchgeführt.

Der Rückstand wurde zweimal mit phosphat buffered Saline (PBS) gewaschen, das fertige Antigen bis zum Gebrauch auf - 20°C eingefroren.

#### 3.1.4.3.2. Herstellung der Antiseren nach ROBERTS

2,5 ml Antigen wurden aufgetaut und in 2,5 ml 4%igem Natrium-Alginat mit 0,8 % Ca-Gluconat und 0,4 % Phenol homogenisiert. Davon injizierte man jeweils 4 ml im Abstand von einer Woche plantar, subkutan und intramuskulär einem Kaninchen. Eine Woche nach der letzten Injektion wurden dreimal im Abstand von einem Tag je 1 ml Antigen in die Ohrvene injiziert. Einige Tage später wurde dem

Kaninchen eine Blutprobe entnommen und durch die Präzipitation geprüft. Bei positivem Ausfall tötete man das Kaninchen und das Blut aus der Carotis fing man in einem Zentrifugenglas auf. Der Blutkuchen wurde abzentrifugiert, das Serum in kleine Portionen abgefüllt und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

#### 3.1.4.3.3. Präzipitation

Die Präzipitation folgt einer von DEDIÉ und SCHOENE ausgearbeiteten Methode für die Differenzierung von Mycoplasmen des Schweines (15):

Als Agargel dient ein einprozentiger Agar (Merck Nr. 1614) in 8%iger Kochsalzlösung ohne Phenolzusatz, pH 7,5. Zum Abfangen von Antikörpern gegen das Schweineserum in dem zur Antigenherstellung verwendeten Nährboden wird dem Agar 1 % Schweineserum zugesetzt.

In den Agar wurden nach Bedarf Löcher von 5 mm  $\varnothing$  in 1 cm Abstand gestanzt und mit Antigen bzw. Antiserum gefüllt. Die Platten verblieben bis zur Ablesung und zwischenzeitlich in Plastikbeuteln bei  $25^{\circ}\text{C}$ . Man las alle 24 Stunden bei von unten kommendem Schräglicht bis zur optimalen Ausbildung der Präzipitation und zeichnete die Banden in ein Schema ein.

#### 3.1.4.4. Differenzierung mittels Färbung

Es wurde nach BOUIN fixiert und nach GIEMSA auf in Chrom-Schwefel-Säure gespülten Objektträgern gefärbt:

Die Objektträger mit dem luftgetrockneten Mycoplasmenausstrich wurden mit BOUIN's Fixierungsgemisch bedeckt und ca. 10 Minuten fixiert. Danach wurden die Objektträger mit Aqua dest. ausgewaschen, bis die gelbe Farbe ausgespült war.

Die Färbung mit verdünnter GIEMSA-Lösung dauerte etwa 2 Stunden. Die GIEMSA-Lösung wurde mit vollentsalztem Wasser von pH 7,2 eins zu zwanzig verdünnt.

3.1.5. Referenzstämme \*

Alle Untersuchungen sind mit den Referenzstämmen M. arginini, M. bovigenitalium und M. bovirhinis durchgeführt worden. Diese Stämme wurden auch zur Herstellung der Antiseren für die Präzipitation benutzt.

Als M. laidlawii wurden Mycoplasmen bezeichnet, die sich kulturell und biochemisch entsprechend HAYFLICK's Angaben verhielten (28). Ein Referenzstamm stand nicht zur Verfügung.

---

\* Für die Überlassung der Referenzstämme danke ich Herrn Professor Dr. Nicolet, Bern.

### 3.2. Ergebnisse

Bei der Untersuchung von Nasen-Rachen-Tupfern bzw. Proben aus dem tieferen Respirationstrakt von Kälbern, die bezüglich ihrer Herkunft und ihres Gesundheitszustandes sehr unterschiedlich waren, konnten Mycoplasmen sehr häufig isoliert werden (67,5 %).

Um Rückschlüsse auf die Bedeutung bestimmter Mycoplasmen-spezies bei der Entstehung von respiratorischen Kälbererkrankungen sichern zu können, wurde versucht, durch den Einsatz aller verfügbaren Methoden, die Isolate möglichst genau zu differenzieren. Das heißt, die serologische Zuordnung eines isolierten Stammes wurde erst dann als abgeschlossen betrachtet, wenn alle durchgeführten Teste übereinstimmende Ergebnisse erbracht hatten.

Die Kriterien, die zur Differenzierung der Stämme herangezogen wurden, sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Kriterien zur Differenzierung von  
Mycoplasmenisolaten

| Spezies          | Differenzierungsmethoden |     |     |     |     |     |                  |      |             |     |     |     |
|------------------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|------|-------------|-----|-----|-----|
|                  | kulturell                |     |     |     |     |     | bio-<br>chemisch |      | serologisch |     |     |     |
|                  | 1                        | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7                | 8    | 9           | 10  | 11  | 12  |
| M.arginini       | b                        | -   | +   | +++ | +++ | +   | -                | +++  | ±           | +++ | -   | -   |
| M.bovigenitalium | b                        | -   | +   | +++ | +++ | +   | ±                | -    | -           | -   | +++ | -   |
| M.bovirhinis     | b                        | -   | +   | +++ | +++ | +++ | ++               | -    | -           | -   | -   | +++ |
|                  |                          |     |     |     |     | β   |                  | gelb |             |     |     |     |
| M.laidlawii      | a                        | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++               | -    | +           | -   | -   | -   |
|                  |                          |     |     |     |     | β   |                  |      |             |     |     |     |

1: Kolonieform

- a) typischer zentraler Nippel mit glatter Randzone
- b) typischer zentraler Nippel mit granulierter Randzone
- c) flach ohne deutlichen Nippel mit glatter Randzone
- d) flach ohne deutlichen Nippel mit granulierter Randzone
- e) sonstige Formen

2: Temperaturoptimum bei 20°C

3: Temperaturoptimum bei 37°C

4: Wachstumstest auf Wittlestone

5: Wachstumstest auf Edwards

6: Wachstumstest auf Blut-Agar

7: Glucosefermentation

8: Arginindesiminierung

9: TTC-Reaktion

10: Präzipitation M.arginini

11: Präzipitation M.bovigenitalium

12: Präzipitation M.bovirhinis

nein: -

ja : + bis +++

Tabelle 4: Vorkommen von Mycoplasmen bei gesunden und unter respiratorischen Symptomen erkrankten Kälbern aus verschiedenen Beständen Oberschwabens

Von 120 entnommenen Proben konnten 81mal Mycoplasmen isoliert werden. Am häufigsten war dabei die Spezies M.bovirhinis vertreten. Allein 61 Isolate ließen sich dieser Spezies zuordnen. 17 Stämme gehörten zur Spezies M.bovigenitalium und 2 zur Spezies M.laidlawii.

| Anzahl und Gesundheitszustand der Tiere          | Art der Untersuchungssprobe         | Mycoplasmen-nachweis positiv | Differenzierung der isolierten Mycoplasmen      |              |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------|--------------|
| 21 gesunde, lebende Kälber                       | Nasen-Rachen-Tupfer                 | 21                           | M.bovirhinis                                    | 21           |
| 26 lebende Kälber mit respiratorischen Symptomen | Nasen-Rachen-Tupfer                 | 24                           | M.bovigenitalium<br>M.bovirhinis<br>M.laidlawii | 9<br>13<br>2 |
| 48 gesunde Schlachtkälber                        | Bronchial-Tupfer, Lungenorganproben | 26                           | M.bovigenitalium<br>M.bovirhinis<br>nicht diff. | 4<br>21<br>1 |
| 25 krank geschlachtete bzw. verendete Kälber     | Bronchial-Tupfer, Lungenorganproben | 10                           | M.bovigenitalium<br>M.bovirhinis                | 4<br>6       |

Gesamtzahl: 120

81

Tabelle 5: Isolierung von Mycoplasmen aus Nasen-  
Rachen-Tupfern gesunder Kälber

In der Gruppe der gesunden Kälber, von denen Nasen-  
Rachen-Tupferproben untersucht worden waren, wurde nur  
M.bovirhinitis gefunden.

| Bestand   | Anzahl der<br>untersuch-<br>ten Tiere | Alter der<br>Tiere in<br>Wochen | Mycoplasmennachweis            |                                |    |
|-----------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----|
|           |                                       |                                 | Anzahl<br>positiver<br>Isolate | Differenzierung<br>der Isolate |    |
| 1         | 4                                     | 13 - 20                         | 4                              | M.bovirhinitis                 | 4  |
| 2         | 4                                     | 8 - 12                          | 4                              | M.bovirhinitis                 | 4  |
| 3         | 13                                    | 3 - 9                           | 13                             | M.bovirhinitis                 | 13 |
| Gesamt: 3 | 21                                    | 3 - 20                          | 21                             | M.bovirhinitis                 | 21 |

Daß M.bovirhinitis bei jedem Kalb gefunden worden ist, hängt  
natürlich mit der Haltungsform zusammen. Es handelte sich  
hierbei um Tiere aus 3 Mastbetrieben, wo die Kälber entwe-  
der mit dem gleichen Eimer oder aber vom Tränkeautomaten  
versorgt werden.

Tabelle 6: Isolierung von Mycoplasmen aus Nasen-  
Rachen-Tupfern lebender aber kranker Kälber

Die Isolierung von Mycoplasmen aus Nasen-Rachen-Tupferproben von Kälbern, die mit respiratorischen Symptomen erkrankt waren, gestaltete sich schwieriger.

| Bestand   | Anzahl der untersuchten Tiere | Alter der Tiere in Wochen | Mycoplasmennachweis      |                                                 |
|-----------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------|
|           |                               |                           | Anzahl positiver Isolate | Differenzierung der Isolate                     |
| 1         | 17                            | 8 - 12                    | 15                       | M.bovigenitalium<br>M.bovirhinis<br>M.laidlawii |
| 2         | 4                             | 6 - 12                    | 4                        | M.bovirhinis                                    |
| 3         | 1                             | 1                         | 1                        | M.bovigenitalium                                |
| 4         | 4                             | 8 - 12                    | 4                        | M.bovirhinis                                    |
| Gesamt: 4 | 26                            | 1 - 12                    | 24 *                     | M.bovigenitalium<br>M.bovirhinis<br>M.laidlawii |

\* Aus einer Probe stammten zwei verschiedene Mycoplasmenstämme

Häufig wurden die Mycoplasmen bereits bei der Anzüchtung durch zahlreiche bakterielle Keime überwuchert und konnten nur mühsam separiert werden. Auch in dieser Gruppe überwog aber wieder M.bovirhinis (13 Isolate). Allerdings dominierte im Bestand 1 M.bovigenitalium, der bei der Untersuchung von 15 Kälbern 8mal isoliert werden konnte. Im gleichen Bestand kam auch 2mal M.laidlawii vor. Eine Beziehung zu den beobachteten Erkrankungen bzw. Symptomen war aber nicht erkennbar.

Tabelle 7: Isolierung von Mycoplasmen aus Lungenorganproben und Bronchialtupferproben von gesunden Schlachtkälbern

Aus 48 Mastkälbern, die an 2 verschiedenen Schlachthöfen in Oberschwaben geschlachtet worden waren, ließen sich aus Lungen-Organproben und Bronchialtupferproben nur 26mal Mycoplasmen isolieren.

| Schlacht-<br>hof | Anzahl der<br>untersuch-<br>ten Tiere | Alter der<br>Tiere in<br>Wochen | Mycoplasmennachweis            |                                |    |
|------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----|
|                  |                                       |                                 | Anzahl<br>positiver<br>Isolate | Differenzierung<br>der Isolate |    |
| 1                | 44                                    | 16 - 25                         | 24                             | M.bovigeni-<br>taliaum         | 4  |
|                  |                                       |                                 |                                | M.bovirhinitis                 | 19 |
|                  |                                       |                                 |                                | nicht diff.                    | 1  |
| 2                | 4                                     | 16 - 20                         | 2                              | M.bovirhinitis                 | 2  |
| Gesamt: 2        | 48                                    | 16 - 25                         | 26                             | M.bovigeni-<br>taliaum         | 4  |
|                  |                                       |                                 |                                | M.bovirhinitis                 | 21 |
|                  |                                       |                                 |                                | nicht diff.                    | 1  |

Da die Tiere dieser Gruppe aus sehr unterschiedlichen Beständen kamen, geben sie wohl einen besonders guten Überblick über die Verbreitung von Mycoplasmen in gesunden Kälbern. Vergleicht man diese Befunde mit den Ergebnissen der Gruppe 1, so kann man annehmen, daß es sowohl Kälberbestände geben muß, die völlig frei von Mycoplasmen sind, als auch Bestände, in denen fast jedes Tier Mycoplasmen-

träger ist. In dieser Gruppe der gesunden Schlachtkälber konnten wiederum nur M.bovirhinis (21 Isolate) und M.bovigenitalium (4 Isolate) beobachtet werden. Ein Isolat konnte nicht differenziert werden, da nur Immunsereen gegen die bekanntesten bovinen Mycoplasmen zur Verfügung standen.

Tabelle 8: Isolierung von Mycoplasmen aus Lungenorganproben und Bronchialtupferproben von krank geschlachteten oder verendeten Kälbern

Erstaunlicherweise unterschieden sich die Untersuchungsbefunde von Lungenorganproben und Bronchialtupferproben krank geschlachteter oder verendeter Kälber nicht von denen der anderen Gruppen.

| Herkunft | Anzahl der untersuchten Tiere | Alter der Tiere in Wochen | Mycoplasmennachweis      |                                   |        |
|----------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------|
|          |                               |                           | Anzahl positiver Isolate | Differenzierung der Isolate       |        |
| 1        | 1                             | 8                         | 1                        | M.bovirrhinis                     | 1      |
| 2        | 4                             | 16 - 22                   | 4                        | M.bovigenitalium                  | 4      |
| 3        | 1                             | 16                        | 1                        | M.bovirrhinis                     | 1      |
| 4        | 1                             | 20                        | 1                        | M.bovirrhinis                     | 1      |
| 5        | 2                             | 2 - 30                    | 2                        | M.bovirrhinis                     | 3      |
| 6        | 16                            | 12 - 22                   | 0                        | 0                                 |        |
| Gesamt   | 25                            | 2 - 30                    | 10                       | M.bovigenitalium<br>M.bovirrhinis | 4<br>6 |

Obwohl die Tiere dieser Gruppe unter schweren klinischen Symptomen litten bzw. pathologisch-anatomisch hochgradige Läsionen im Bereich des Respirationstraktes zeigten, konnten auch hier wiederum nur M.bovirrhinis (6 Isolate) und M.bovigenitalium (4 Isolate) isoliert werden. Da die

Mycoplasmenkolonien bei der Anzüchtung oft sehr stark von Bakterienkolonien überwuchert wurden, muß allerdings angenommen werden, daß ein Teil der vorhandenen Mycoplasmen eventuell nicht erfaßt werden konnte.

### 3.3. Diskussion

Seit der Entdeckung des Erregers der Lungenseuche der Rinder, also der Mycoplasmenart, die einer ganzen Gruppe von Mikroorganismen den Namen gab (PPLO), ist die Diskussion, ob auch noch andere Mycoplasmenarten als Erreger von respiratorischen Erkrankungen in Frage kommen, nie ganz still geworden. So konnten bald auch einige sehr wichtige Mycoplasmen, wie z.B. der Erreger der CRD (chronische respiratorische Erkrankung) des Geflügels (*Mycoplasma gallisepticum*), isoliert und näher charakterisiert werden. Es ist deshalb nur zu verständlich, daß auch bei der Erforschung der respiratorischen Kälbererkrankungen Mycoplasmen in den Kreis der potentiellen Krankheitserreger einbezogen wurden (21).

Betrachtet man allerdings die Ergebnisse dieser Arbeiten, so ist im herkömmlichen Sinne kaum eine Aussage möglich (Tabelle 2). Mycoplasmen konnten zwar in großer Zahl aus erkrankten Kälbern isoliert werden, untersuchte man dann aber gesunde Tiere, so wurden häufig die gleichen Arten zu einem ebenso hohen Prozentsatz gefunden (24, 42, 47, 62).

Auch in den vorliegenden Untersuchungen war der Anteil Mycoplasmen-positiver Tiere im Durchschnitt sehr hoch. Er lag bei 67,5 %. Entgegen unseren Erwartungen bestanden auch keine signifikanten Unterschiede zwischen kranken und gesunden Kälbern. Ebenso war die Technik der Probenentnahme ohne wesentlichen Einfluß auf die Ergebnisse.

Das heißt, weniger der Gesundheitszustand als vielmehr die Art der Haltung scheint für den Grad der Mycoplasmen-Verseuchung eines Bestandes von Bedeutung zu sein.

So konnten z.B. aus allen 21 Kälbern, die aus 3 großen Kälbermastbetrieben stammten, Mycoplasmen isoliert werden, obwohl die Tiere zum Zeitpunkt der Probenentnahme völlig gesund waren (Tabelle 5). Die Isolierung von Mycoplasmen aus erkrankten oder verendeten Kälbern war dagegen oft durch starke Kontaminationen mit bakteriellen Sekundärkeimen erschwert und täuschte deshalb eine geringere Anzahl positiver Tiere vor (Tabelle 6 und 8). Diese Ergebnisse verdeutlichen, daß Angaben über die Verbreitung von Mycoplasmen in einem bestimmten Bestand lediglich Hinweise auf die haltungsbedingten Übertragungsmöglichkeiten erlauben.

Auch die Differenzierung der isolierten Mycoplasmenstämme lieferte keine echten Anhaltspunkte über die Bedeutung der einzelnen Serotypen für die respiratorischen Erkrankungen der Kälber. Der weitaus am häufigsten isolierte Serotyp, M.bovirhinis, ließ sich aus gesunden wie aus kranken Tieren anzüchten. Ähnliche Verhältnisse wurden auch bei den anderen Stämmen gefunden. Daß für die Verbreitung bestimmter Serotypen der Standort eine Rolle spielen kann, zeigt die Tatsache, daß NICOLET in der Schweiz sehr häufig M.arginini-Infektionen nachweisen konnte, während uns dies in keinem einzigen Falle gelang. Da SCHOENE aber im gleichen Labor mit derselben Methode M.arginini aus Spermaproben von Bullen in Baden-Württemberg isolieren konnte, dürften technische Schwierigkeiten ausgeschlossen werden (54).

trotz dieser negativen Befunde sollte aber eine mögliche Beteiligung von Mycoplasmen bei der Entstehung von respiratorischen Erkrankungen beim Kalb nicht völlig von der Hand gewiesen werden. Die neuen Erkenntnisse der Infektions- und Seuchenmedizin verdeutlichen, daß die alte, von HENLE und KOCH postulierte, monokausale Betrachtungsweise eines Infektionsgeschehens für viele Erkrankungen, die sich durch veränderte Umweltbedingungen in den letzten Jahren immer stärker in den Vordergrund geschoben haben, nicht mehr zutreffend ist (40). So konnte nachgewiesen werden, daß oft harmlose, in der Population weit verbreitete Mikroorganismen durch ein synergistisches Zusammenwirken verbunden mit infektionsfördernden Faktoren im Makroorganismus und in dessen Umwelt plötzlich aktiviert werden und zu Erkrankungen führen. Solch ein Geschehen wäre mit Mycoplasmenbeteiligung denkbar. Zur Aufdeckung dieser komplizierten Zusammenhänge sind weitere Untersuchungen von Nöten, die allerdings nur durch eine koordinierte Zusammenarbeit innerhalb der gesamten Tiermedizin erfolgreich sein werden.

4.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Aus 120 Nasen-Rachen-Tupfer- und Lungenorganproben von Kälbern verschiedener Bestände Oberschwabens konnten 81mal Mycoplasmen isoliert werden. Die Differenzierung der Isolate erfolgte kulturell, biochemisch und serologisch.

Weitaus am häufigsten war das Vorkommen von M.bovirhinis (61mal), seltener dagegen M.bovigenitalium (17mal) und M.laidlawii (2mal). Eine Probe konnte nicht differenzier werden. M.arginini wurde nicht isoliert.

Die Untersuchungsergebnisse gestatten keine Rückschlüsse auf die Bedeutung der isolierten Mycoplasmenspezies für die Entstehung von respiratorischen Erkrankungen beim Kalb. Ihre Bedeutung im Rahmen von Mischinfektionen wird diskutiert.

## S U M M A R Y

From 120 nasal-pharyngeal-swabs and samples of the lungs of calves from different farms in Oberschwaben Mycoplasmas could be isolated 81 times. The identification and differentiation of the isolates was made by cultural, biochemical und serological methods.

Most often M.bovirhinis could be found (61 times). On the other hand M.bovigenitalium (17 times) and M.laidlawii (twice) were less often found. One sample could not be identified. M.arginini was not isolated.

The results of the research do not allow any conclusions concerning the importance of the isolated mycoplasma-species for respiratory diseases in calves. Their importance concerning mixed infections is discussed.



8. BLOM, E., und H. ERNO, 1970: Mycoplasmas in Semen of Danish Breeding Bulls. Proc. 11. Nordic. Veterinary Congress, Bergen, 254.
9. BÖGEL, K., 1961: Virologische Untersuchungsbe- funde bei Kälbern mit respi- ratorischem Syndrom unter be- sonderer Berücksichtigung der Parainfluenza 3-Virus-Infektion Mhft. Tierheilk., 13, 162 - 174.
10. CARMICHAEL, L.E., Bovine Mycoplasma Mastitis. R.S. GUTHRIE, M.G. FINDER, Proc. 67th. Ann. Meeting, U.S. L.E. FIELD, S.D. JOHNSON Livestock Sanitary Assoc., und W.E. LEINQUIST, 1963: 220 - 235.
11. CHABERT, 1793: zit. nach Eichwald, C., F. Ill- ner und H. Trolldenier, 1971 Mycoplasmosen beim Tier. VEB Fischer, Jena.
12. CONNOLE, M.D., L. LAWS A Mycoplasma sp. causing mastitis und R.K. HART, 1966: in cattle in Queensland, Austra- lien. Vet. J. (im Druck, zit. nach Leach).
13. DAHME, E., und E. WEISS, Grundriß der speziellen patholo- 1968: gischen Anatomie der Haustiere. Enke Verlag Stuttgart.

14. DEDIË, K., 1968: persönliche Mitteilung
15. DEDIË, K., und  
W. SCHOENE, 1970: Mycoplasmenbefunde bei  
Schweinen.  
Vortrag Tag der Tierärzte de  
SGD, Bad Zwischenahn.
16. DEDIË, K., 1973: persönliche Mitteilung.
17. DINTER, Z., und  
K. BAKOS, 1961: Studien über die Ätiologie d  
sogenannten Umea-Krankheit.  
Arch. Exp. Vet. Med., 15,  
216 - 219.
18. DULBECCO, R., und  
M. VOGT, 1954: Plaque formation and isolati  
of pure lines with poliomyel  
viruses.  
J.exp. Med., 99, 167.
19. EDWARD, D.G.,  
J.L. HANCOCK und  
S.L. HIGNETT, 1947: Isolation of pleuropneumonia  
like organisms from the bovi  
genital tract.  
Vet.Rec., 59, 329 - 330.
20. EDWARD, D.G., und  
E.A. FREUNDT, 1956: The classification and  
nomenclature of organisms of  
the pleuropneumonia group.  
J. Gen. Microbiol., 14, 197
21. EICHWALD, C., F. ILLNER  
und H. TROLLDENIER, 1971: Mycoplasmosen beim Tier.  
VEB Fischer, Jena.

22. FERNELIUS, A., und  
A. RITCHIE, 1966:  
Mixed Infections or Contamina-  
tions of Bovine Viral Diarrhea  
Virus with Infectious Bovine  
Rhinotracheitis Virus.  
Am. J. Vet. Res., 27,  
241 - 248.
23. GOURLAY, R.N., und  
R.H. LEACH, 1969:  
A New Mycoplasma Species  
isolated from Pneumonic Lungs  
of Calfs.  
J. Med. Microbiol., 3,  
111 - 123.
24. GOURLAY, R.N., und  
L.H. THOMAS, 1972:  
The Role of Mycoplasmas in the  
Pathogenesis of cattle Pneumonia.  
World Association for Buiatrics  
Congress London 64 - 67.
25. HALE, H.H.,  
G.F. HEMBOLDT,  
W.N. PLASTRIDGE und  
E.F. STULA, 1962:  
Bovine mastitis caused by  
Mycoplasma species.  
Cornell. Vet., 52, 582 - 591.
26. HARBOURNE, J.F.,  
D. HUNTER und  
R.H. LEACH, 1965:  
The Isolation of Mycoplasma  
from Bovine Lungs and Nasal  
swabs.  
Res. Vet. Sci., 6, 178 - 188.
27. HARTEANN, H.A.,  
M.E. TOURTELOTTE,  
S.W. TIELSEN und  
W.N. PLASTRIDGE, 1964:  
Experimental bovine uterine  
Mycoplasmosis.  
Res. Vet. Sci., 5, 303 - 310.

28. HAYFLICK, L., 1969: The Mycoplasmatales and the L-Phase of Bacteria. North-Holland Publishing Company-Amsterdam.
29. HERDERSCHÉE, D., A.C. RUYS und G.R. von RHIJN, 1963: Pleuropneumonia like organisms in tissue cultures. Antonie Leeuwenhoek, 29, 368 - 376.
30. HUDSON, J.R., und J.R. ETHERIDGE, 1963: A new type of pleuropneumonia-like organisms (PPLO) from the nose of cattle. Aust.Vet. J., 39, 1 - 5.
31. JASPER, D.E., N.C. JAIN und L.H. BRAZIL, 1966: Clinical and laboratory observations on bovine mastitis due to Mycoplasma. J. Am. Vet.Med.Assoc., 148, 1017 - 1029.
32. KARBE, E., S.W. NIELSEN und C.F. HELMBOLDT, 1967: Pathologie der experimentellen Mycoplasmen-Mastitis beim Rind. Zbl. Vet. Med. B, 14, 7 - 31.
33. LAIDLAW, P.P., und W.J. ELFORD, 1936: A new group of filterable organisms. Proc. Roy. Soc. Biol., 120, 292 - 303.

34. LANGER, P.H., und  
L.E. CARMICHAEL, 1963: Identification of pneumoenteritis isolates from cattle as Mycoplasma.  
Proc. 67th. Ann. Meeting, U.S. Livestock Sanitary Assoc.,  
129 - 139.
35. LEACH, R.H., 1967: Comparative Studies of Mycoplasma of Bovine Origin.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 143,  
305 - 316.
36. LEACH, R.H., 1970: zit. nach Nicolet, J., und  
P. de Meuron, 1970.
37. MAYR, A., 1961: Grundlagen einer Ganzheitsbe-  
trachtung von Viruserkrankungen.  
Mhft. Tierheilk., 13, 102 - 111.
38. MAYR, A., Th. SCHLIESSER, Infektionsprophylaxe beim neuge-  
P. PLANK und G. HERKNER. borenen Kalb durch künstliche  
1967. Keimbesiedlung.  
Tierärztl. Umschau, 22, 124 - 142
39. MAYR, A., Th. SCHLIESSER, Infektion-Infektionskrankheit-  
und W. MERK, 1969: Seuche.  
Sonderdruck aus den Mitteilungen  
der Tierärzte", 4, 3 - 16.
40. MAYR, A., und B. BIBRACK; Ursache-Wirkungs-Relationen bei  
1974: Infektionskrankheiten.  
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt.,  
Orig. A, 226, 167 - 183.

41. MEYER, 1910: zit. nach Eichwald, C., F. Illner und H. Trolldenier, 1971:
42. NICOLET, J., und P. de MEURON, 1970: Isolement et caractérisation de mycoplasmes dans le syndrome de la pneumoentérite de veau. Zbl. Vet. Med. B, 17, 1031 - 1034.
43. NICOLET, J., 1973: persönliche Mitteilung.
44. NITZSCHKE, E., B. DICKE und R. PRIEFLE, 1971: Untersuchungen über die Verbreitung in Infektionen mit verschiedenen Virusarten (MD/VD, IBR/IPV, PI3, Enterovirus) und Bedsonia in den Rinderbeständen der Rheinland-Pfalz. Tierärztl. Umschau, 26, 597 - 600.
45. NOCARD, E. und E. ROUX, 1898: La Microbe de la péripneumonie. Ann. Inst. Pasteur (Paris), 12, 240 - 262.
46. NOWAK, J., 1929: zit. nach Hayflick, L., 1969.
47. PIGNATELLI, P., und D. GALASSI, 1973: Die Isolierung von Mycoplasmen bei Polyarthritiden und Pneumonien der Kälber. referiert in: Der praktische Tierarzt, 5, 208 - 209.
48. ROBERTS, D.H., 1968: Serologische Diagnose von Mycoplasma hyopneumoniae-Infektion beim Schwein. Vet.Rec., 82, 362 - 363.

9. ROLLE, M., und A. MAYR, 1966: Mikrobiologie und Allgemeine Seuchenlehre.  
Enke Verlag, Stuttgart.
10. ROOTS, E., 1944: Die Herstellung von Bakterien-  
nährböden aus trypsinverdaulichem  
Fleisch.  
Deutsch.Tierärztl.Wschr., 15,  
139 - 141.
11. ROSENBERGER, G., 1970: Krankheiten der Rinder.  
Parey Verlag Berlin Hamburg.
12. ROSENQUIST, B., 1970: Mixed Viral Etiology of a  
Shipping Fever Epizootic in  
Cattle.  
Am. J. Vet. Res., 31, 1,  
989 - 994.
13. ROSNER, S.F., 1971: Bovine Parainfluenza Type 3  
Virus Infection and Pasteurellosis  
J. Am. Vet. Assoc., 159,  
1375 - 1382.
14. SCHOENE, W., 1973: persönliche Mitteilung.
15. SIMMONS, G.C., und  
L.A.Y. JOHNSTON, 1963: Arthritis in calves caused  
by Mycoplasma sp.  
Aust. Vet. J., 39, 11 - 14.

56. STECK, F., J.NICOLET  
und E. SCHIPPER, 1971:  
Aetiologische Untersuchungen  
über virale und bakterielle  
Infektionen in Kälber- und  
Rindermastbetrieben.  
Berl. Münch. Tierärztl.Wsch.,  
84,2, 21 - 24.
57. STERN, P.N., und  
W.K. HARRIS, 1964:  
Abstract of report on Myco-  
plasma (PPLO) mastitis in  
vestigations.  
Proc. Northeastern Mastitis  
Conference University of  
Guelph, Canada.
58. STUART, P., I. DAVIDSON,  
G. SLAVIN, F.A. EDGSON  
und D. HOWELL, 1963:  
Bovine Mastitis caused by  
Mycoplasma.  
Vet.Rec., 75, 59 - 64.
59. SYVERTON, J.T., und  
G.P. BERRY, 1947:  
Multiple virus infection of  
single host cells.  
J.Exp. Med., 86, 145.
60. TAYLOR-ROBINSON, D.,  
D.A. HAIG und M.H.  
WILLIAMS, 1967:  
Bovine T-strain mycoplasma.  
Ann. N.Y.Acad. Sci., 143,  
517 - 518.
61. TURNER, A.W., 1959:  
Pleuropneumonia group of  
diseases  
In: Infections Diseases of  
Animals.  
London, Butterworth, 2, 437 -

4. URQUIZA, F., 1973: Untersuchungen über das Auftreten von Mycoplasmen bei Rindern.  
Dissertation, Wien.
5. WHITTLESTONE, P., 1967: Mycoplasma in enzootic pneumonia of pigs.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 143,  
271 - 280.
6. WILLEMS, 1836: zit. nach: Eichwald, C.,  
F. Illner und H. Trolldenier,  
1971.
7. WIZIGMANN, G., 1973: Ätiologie der Rindergrippe.  
Vortrag in Oberstaufen  
Internationale Bodensee-Tierärzte-  
Tagung.

6.            LEBENS LAUF

Am 5. Februar 1948 wurde ich, Klaus Wolfgang Gossger, als erstes von drei Kindern der Eheleute Dr.med.vet. Wolfgang Gossger und Liselotte Gossger geb. Lepke, in Munderkingen geboren.

Im Frühjahr 1954 trat ich in die Volksschule Aulendorf ein. 1958 wechselte ich zum Progymnasium Aulendorf und im Herbst 1966 legte ich die Reifeprüfung am Wieland-Gymnasium in Biberach an der Riß ab.

Nach Ableistung meiner Dienstzeit in der Bundeswehr studierte ich ab Sommersemester 1968 an der Universität München Tiermedizin. Im Frühjahr 1973 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

Den Herren Professoren Dr. Dr. h.c. A. Mayr und  
Dr. K. Dedié danke ich hiermit für die freundliche  
Überlassung des Themas.

Besonderen Dank gebührt für wissenschaftliche  
Unterstützung Fräulein Priv. Doz. Dr. B. Bibrack  
und Herrn Reg.Vet.Direktor Dr. W. Schoene.





